

# 電子顕微鏡による苔類胞子の観察

## 1. コマチゴケについて

三 好 教 夫\*

### Electron-microscopic observations of spores in the Hepaticae

#### 1. *Calobryum rotundifolium* (Mitt.) Schiffn.

Norio MIYOSHI\*

#### ま え が き

苔類胞子の形態は古くから分類学や胞子発芽の研究の一部として記載されたり図示されており、また近年花粉学の発達と共に胞子の形態を主体とした研究もなされるようになってきた。その結果、光学顕微鏡の400～600倍程度でそれぞれの種類に特徴的な表面の模様がたやすく観察できるツノゴケ目やゼニゴケ目の大形胞子（直径約 $25\mu$ 以上）の形態については多数報告され、その成果が科や属の段階で、まれには種の段階でも分類学上の参考になったり、系統分類を論ずる際の一つの根拠ともなっている。一方ウロコゴケ目には小形胞子（直径 $25\mu$ 以下）をもつ種類が多数あり、これらの胞子は光学顕微鏡では油浸レンズを使用しても、その表面の模様を十分に観察することが困難なため電子顕微鏡による研究が期待されている。すでに藓類胞子については、新(1963), McClymont & Larson (1964), 新・室屋(1965), Valanne (1966)などの電子顕微鏡による研究報告があるが、苔類胞子については Horner, Lersten & Bowen (1966) だけである。そこで筆者は苔類胞子のうち特に小形胞子をレプリカ法と直接撮影法で観察して、光学顕微鏡では認められないような微細構造を調べている。今回報告する *Calobryum rotundifolium* はウロコゴケ目中のコマチゴケ亜目に属し、分類学的形態や胞子発芽の様式で数々の特徴をもち、苔類の系統を論ずるさい重要な意義をもっている種であるが、その胞子形態だけについてみると、光学顕微鏡で観察するかぎりウロコゴケ目中の他種の小形胞子と区別できる特徴的な形態をあまり認めることができない。

#### 材 料 と 方 法

この研究に使用した材料は、筆者が下記の通り採集し、自然乾燥させたものである。

*Calobryum rotundifolium* : 広島市三滝町 (Apr. 14, 1962)

*Riccardia pinguis* : 屋久島, 鯛の川 (Mar. 20, 1963)

後者の種はウロコゴケ目のフタマタゴケ亜目に属するもので、比較のため観察した。

レプリカ資料は山崎・竹岡(1957), Takeoka & Stix (1963) に記載されているメチルメタクリレート・カーボン2段レプリカ法に従って作成した。直接撮影の資料はあらかじめコロジオン支持膜をはり、カーボン蒸着をしてあるシートメッシュの上に、約 $50^{\circ}\text{C}$ の電気恒温器内で乾燥

\* 岡山理科大学生物科学教室 Department of Biology, Okayama College of Science, Shuku, Okayama.

させた胞子をふりかけて作成した。観察は JEM-T6S 型電子顕微鏡を用い、加速電圧 60 kv, 倍率 5000~20000 倍の間で行なった。なお電子顕微鏡による観察結果と対比するための光学顕微鏡用資料は、自然乾燥させた胞子を実処理のままグリセリンゼリーに封入し、カバーガラスの周囲をカナダバルサムで封じて永久プレパラートにして用いた。

## 観 察

光学顕微鏡による *Calobryum rotundifolium* 胞子の観察結果の詳細は Miyoshi (1966) に記載してあるが、簡単に説明すると、極観像は円形、赤道観は半円形~ジン臓形、赤道部直径は 19-21 $\mu$ , 極軸は 13-16 $\mu$ , 膜は薄く約 0.5 $\mu$ , 表面には顆粒が密に分布している。この胞子表面の顆粒を 2 段レプリカ法により作成した資料で観察すると、円形~だ円形で直径は 0.5-1.2 $\mu$  の長さで大小さまざまであるが、そのうち 0.7-0.8 $\mu$  前後のものがもっとも多く、また顆粒の分布状態はかなり不規則である。顆粒の表面には多数のしわ状の線やくぼみ状の模様が認められるが (Pl. I. 6, Pl. II. 1), これは直接撮影の Pl. I. 4, 5 で明らかなように、本来顆粒上には鈍針にちかい突出物が多数あって、それらを上面からレプリカしたために生じたものと思われる。しかし後に記す *Riccardia pinguis* の胞子では鈍針状突出物がはっきりレプリカされているのに (Pl. II. 2), なぜ *Calobryum rotundifolium* では鈍針状突出物がしわ状の線やくぼみ状の模様としてしかレプリカできないかは不明である。この鈍針状突出物は花粉の電子顕微鏡による研究で orbicule とか Ubisch body と呼ばれているものに相当すると考えられる。このように光学顕微鏡レベルで観察できる模様の上に、電子顕微鏡でみるとさらに微細な突出物が認められる例は、すでに花粉ではたくさん報告され、蘚類胞子についても新 (1963) が報告しているが、ここに苔類胞子においても同様な突出物の存在することが確認できたわけである。本研究のレプリカ法による写真では各顆粒の表面に突出物の模様が認められただけで各顆粒間、すなわち顆粒以外の全ての胞子表面には模様があまり認められなかったが、Pl. I. 6 の A 印の右側のように顆粒以外の表面にも微細な突出物のあることや、直接撮影の写真から推察して、実際には胞子表面全体に突出物が存在するけれども、今回の資料では顆粒表面だけしかレプリカされず、それ以外の部分はほとんどレプリカされなかったと思われるので、今後さらに検討してみる必要がある。

直接撮影の写真により顆粒を側面から観察すると、基部から上方に向かって少し細くなり、頂上部で急にふくらむ乳頭状をしたものが多いことが判る。この乳頭上顆粒の表面には長短さまざまな鈍刺状突出物がある。この突出物は perine に由来するものと思われるが、ゼニゴケ目の大多数の種類やウロコゴケ目の一部の胞子も持っているようなよく発達した perine と同じものであるかどうかは超ミクロトームによる胞子膜断面像の観察をしてみなければ断定できない。なお直接撮影による模様の大きさはレプリカ法によるものよりかなり小さく表現されている (Pl. I. 4, 5, 6)。この原因として前者は電子線の熱により極度に乾燥して縮少し、後者は反対にオーバプレスされたことが考えられるが、まだ正確なことは判らない。

以上のように *Calobryum rotundifolium* の顆粒には光学顕微鏡では観察できない微細な模様が

確認されたが、はたしてこれらの模様が他種の小形胞子と区別できるだけの大きな特徴となりうるであろうか。他種の小形胞子の研究は目下進行中で調査した種類数も少ないが、ここでは1例としてこの種とよく似た形態の胞子をもつ *Riccardia pinguis* について比較してみた。この胞子は光学顕微鏡で観察すると *Calobryum rotundifolium* より赤道部直径が  $2-3\mu$ 、極軸も  $1-2\mu$  短く、全般的に小さい。また *Riccardia* の胞子は極軸が短いため同一焦点で極観像全体の模様が観察できるが (Pl. I. 3), *Calobryum* では2-3度焦点をかえないと全体の模様が観察できない (Pl. I. 1, 2), などのちがいが認められる。これを電子顕微鏡写真で観察し、*Calobryum* のものと比較してみると、(1) 各顆粒が全般的に小さいこと、(2) 顆粒上の鈍針状突出物は数が少なく、はっきりレプリカされていること、などの相違点が認められる (Pl. II. 1, 2)。これら2種類間におけると同様に、ウロコゴケ目内にたくさんある小形胞子をもつ各種類の間に微細な形態の相違が認められ、光学顕微鏡だけでは不可能であった小形胞子の識別に役立つかどうかはさらに今後の研究をまたねば判らないが、上記の結果は、少なくとも光学顕微鏡と電子顕微鏡の両方の特性を使って観察すれば、小形胞子をもつ種類のうちかなり多数のものが識別できる可能性のあることを暗示しているようである。

最後に、レプリカ資料作成の方法をご指導下さり、さらに数々の有益なご教示をいただいた京都府立大学竹岡政治博士に厚くお礼申し上げる。またこの研究の機会を与えて下さった高知大学中村純教授ならびに本稿の校閲をして下さった広島大学安藤久次博士に深謝する。

## 文 献

- Horner, H. T. Jr., Lersten, N. R. & Bowen, C. C. 1966. Spore development in the liverwort *Riccardia pinguis*. Amer. Jour. Bot. 53: 1048-1064.
- McClymont, J. W. & Larson, D. A. 1964. An electron-microscopic study of spore wall structure in the Musci. Amer. Jour. Bot. 51: 195-200.
- Miyoshi, N. 1966. Spore morphology of Hepaticae in Japan. Bull. Okayama Coll. Sci. 2: 1-46, pls. 1-4.
- 新 敏夫 1962. 電子顕微鏡による苔類の萌菌と胞子の観察 I. Hikobia 3: 202, pls. 3-4.
- ・室屋滝雄 1965. 同上 II. Hikobia 4: 178-180, pls. 3-4.
- Takeoka, M. & Stix, E. 1963. On the fine structure of the pollen walls in some Scandinavian Betulaceae. Grana Palynologica 4: 161-188.
- Valanne, N. 1966. The germination phases of moss spores and their control by light. Annakes Botanici Fennici 3: 1-60.
- 山崎次男・竹岡政治 1957. 花粉膜の表面構造に関する電子顕微鏡的研究 I. 日林誌 39: 427-437.

## Summary

Structure of spore surface in *Calobryum rotundifolium* was investigated electron-microscopically by methylmethacrylate carbon two-stage replica method and direct observation. Fine ornamentations on papillae of the spores which cannot be observed by light microscope, are recognized by electron-microscope. The ornamentations seem identical with "orbicule" or "Urbisch body"

observed on pollen. A comparison of the ornamentations on papillae of the spores was made between *Calobryum rotundifolium* and *Riccardia pinguis* and some differences were recognized.

### Explanation of plates

Plate I: 1-3. Light microphotographs. 1-2. *Calobryum rotundifolium* ( $\times 2000$ ). 3. *Riccardia pinguis* ( $\times 2000$ ).

Plate I: 4-6. Electron microphotographs. 4. *Calobryum rotundifolium* ( $\times 15000$ ). 5. ditto ( $\times 60000$ ). 6. ditto ( $\times 20000$ ).

Plate II: 1-2. Electron microphotographs. 1. *Calobryum rotundifolium* ( $\times 40000$ ). 2. *Riccardia pinguis* ( $\times 40000$ ).

(The scale bars represent as follows: Pl. I. 1-3..... $10\mu$ ; Pl. I. 5-6 & Pl. II. 1-2..... $1\mu$ .)

---



